



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - UNICEUB  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE – FACES  
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ANA PAULA COSTA ATHAYDE NUNES

**AVALIAÇÃO DO EFEITO TERAPÊUTICO DO MESILATO DE IMATINIBE EM  
PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA**

BRASÍLIA

2013

ANA PAULA COSTA ATHAYDE NUNES

AVALIAÇÃO DO EFEITO TERAPÊUTICO DO MESILATO DE IMATINIBE EM  
PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA

Trabalho de conclusão de curso,  
apresentado em formato de artigo  
científico ao UniCEUB como requisito  
parcial para a conclusão do Curso de  
Bacharelado em Biomedicina.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda  
Vinhaes de Lima

BRASÍLIA

2013

# **AValiação DO EFEITO TERAPêUTICO DO MESILATO DE IMATINIBE EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA.**

Ana Paula Costa Athayde Nunes<sup>\*</sup>; Fernanda Vinhaes de Lima<sup>†\*\*</sup>

## **Resumo**

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma neoplasia da medula óssea caracterizada por alteração citogenética decorrente da translocação entre os cromossomos 9 e 22, originando o cromossomo Philadelphia (Ph). Dentre as opções de tratamento existentes para LMC estão os inibidores de tirosino quinase, como o mesilato de imatinibe (STI-571). A terapia com o imatinibe tem por objetivo prolongar a fase crônica da doença e a vida do paciente, impedindo a formação do gene híbrido BCR-ABL. O objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito terapêutico do imatinibe no tratamento de LMC em pacientes Ph positivos, por meio da análise de prontuários observando a resposta hematológica, citogenética e molecular. Foram selecionados 43 pacientes com faixa etária entre 21 a 77 anos, com mediana de 47. Dezesete pacientes (39,6%) apresentaram baixa idade ao diagnóstico, com precocidade de cerca de 10 anos quando comparada a casuística nacional. O tempo de diagnóstico demonstra que 60,5% possuem a doença há mais de 5 anos. Os dados hematológicos auxiliam o acompanhamento da doença, já as análises citogenética e molecular avaliam a resistência ao tratamento e prognóstico da doença. Neste estudo, observou-se que 60,1% apresentaram resposta citogenética completa (RCC) e algum grau de resposta molecular, caracterizando maior sobrevida. Todos os pacientes selecionados fizeram uso do imatinibe, sendo que apenas 19 continuam seu uso, e os 24 restantes migraram para protocolos de tratamento diferenciados, pois apresentaram resistência ou intolerância ao medicamento.

**Palavras-chaves:** Cromossomo Philadelphia. Proteína BCR-ABL. Inibidor de tirosino quinase.

---

<sup>\*</sup>Graduanda do curso de Biomedicina, Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, Brasília/DF

<sup>\*\*</sup>Doutora em Patologia Molecular. Professora do Curso de Biomedicina, Centro Universitário de Brasília – UniCEUB Brasília/DF. fernanda.lima@uniceub.br

## 1 Introdução

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa crônica clonal, relacionada a uma alteração cromossômica, o cromossomo Philadelphia (Ph), o qual resulta da translocação recíproca e equilibrada entre os braços longos dos cromossomos 9q34 e 22q11, gerando a proteína híbrida BCR-ABL. A doença se apresenta com leucocitose com desvio à esquerda, além de imaturidade granulocítica, anemia, basofilia e trombocitose (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008; SILVEIRA, 2011). Sua incidência é de um a dois casos para cada 100 mil habitantes/ano e representa aproximadamente 15 a 20% de todas as leucemias. A LMC atinge ambos os sexos com idade média de 40 a 50 anos, com 10% dos casos em indivíduos com menos de 20 anos (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008; ALVARENGA *et al.*, 2010; MORALES *et al.*, 2010). Estudos etiológicos da LMC indicam como causa dessa translocação cromossômica, as radiações ionizantes (ICHIMARU *et al.*, 1978; LORENZI, 1999).

O gene BCR expresso no cromossomo 22 codifica uma proteína com função relacionada à regulação do ciclo celular, e o gene ABL, cromossomo 9, codifica uma proteína tirosino quinase. A formação das células malignas promove: a alteração da adesão das células progenitoras às células estromais e à matriz extracelular, a manutenção de um sinal mitogênico constante e a resistência apoptótica celular (LOPES; ABREU, 2009). O fenótipo das leucemias que apresentam células Ph positiva está relacionado com o ponto de fusão para formação do híbrido BCR-ABL. O proto-oncogene ABL pode fazer a junção com BCR em três regiões distintas: M-bcr, mbcr e  $\mu$ -bcr (SEUÁNEZ *et al.*, 2004). A fusão clássica das duas regiões cromossômicas M-bcr, origina um gene quimérico ativo para a síntese de uma proteína anormal, especificamente p210. Esta proteína quimérica, produto da fusão BCR-ABL de 210 kDa, representa o fator patogénico mais conhecido dessa síndrome (VAN ETTEN, 2003; GREER *et al.*, 2009).

A célula progenitora, denominada mieloblasto, encontra-se normalmente na medula em proporções inferiores a 10%. Na LMC, é comum observar, na circulação periférica, leucocitose a níveis superiores a  $25.000/\text{mm}^3$ , o que reflete uma similaridade medular, ocasionando alguns sintomas característicos como a indisposição, astenia, perda ponderal, sudorese, plenitude abdominal, episódios hemorrágicos e esplenomegalia. Observada a clínica, o diagnóstico é feito com base

na citogenética pela presença do cromossomo Ph ou pela presença do gene híbrido BCR-ABL, por meio da análise por hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) ou pela demonstração do RNA mensageiro correspondente ao gene híbrido por reação em cadeia de polimerase de transcrição reversa (RT-qPCR) (ZAGO *et al.*, 2001; KRAMER, 2008; GREER *et al.*, 2009; SILVEIRA, 2011).

A doença evolui em três fases: crônica, acelerada e blástica. A fase crônica é caracterizada pela proliferação e maturação de células mielóides, com aumento da contagem de leucócitos. Em pacientes não tratados, observa-se elevação progressiva na contagem de leucócitos de  $20.000/\text{mm}^3$  para mais de  $500.000/\text{mm}^3$ . Trombocitose é encontrada em 25% dos pacientes, ocasionalmente com contagem acima de  $1.000.000/\text{mm}^3$ , e muitos pacientes apresentam tendências a sangramento. A maior parte dos pacientes não apresenta anemia ao diagnóstico. Em geral, a qualidade de vida dos portadores de LMC não é alterada na fase crônica, especialmente se a contagem de leucócitos estiver controlada.

Na fase acelerada observa-se aumento do número de células blásticas (10 a 30%), leucocitose não responsiva ao tratamento, além de evolução clonal citogenética, que podem estar presentes em mais de 80% dos pacientes em crise blástica e fase acelerada. Com o avanço da doença, o paciente atinge a fase blástica, diagnosticada pelo aumento do número de blastos acima de 30%, febre, sudorese noturna, anorexia, perda de peso, dores ósseas e aumento da esplenomegalia (FADERL *et al.*, 1999; CORTES; KANTARJIAN, 2003; CALABRETTA; PERROTTI, 2004; GILES *et al.*, 2004; GREER *et al.*, 2009; MORALES, 2010). As alterações clonais mais comuns são: cromossomo Ph adicional, trissomias, isocromossomo 17, que caracterizam a evolução da doença, com fases de curta duração, correspondente ao período terminal da doença. A sobrevida média dos pacientes portadores de LMC após o diagnóstico é de 4 a 6 anos sendo que as fases acelerada e blástica apresentam duração média de 3 a 6 meses (ZAGO *et al.*, 2001; GREER *et al.*, 2009; NICOLINI *et al.*, 2009).

Embora 10% dos casos de LMC não apresentem o cromossomo Ph clássico no estudo citogenético, a análise molecular detecta o rearranjo BCR-ABL na maioria dos casos (DEBRAIKELEER *et al.*, 1988). Aqueles em que o rearranjo também é negativo tratam-se de uma variante da LMC de menor proliferação de mielócitos e maior número de células monocitóides e neutrófilos atípicos que, em geral, tem mal prognóstico (KURZROCK *et al.*, 1986; BARTRAM, 1987; DUBÉ *et al.*, 1989; GREER

*et al.*, 2009). Os indivíduos acometidos com LMC Ph positivo são de melhor prognóstico, além de possuírem indicação para transplante. Não havendo doador compatível, esses indivíduos são tratados a fim de prolongar a fase crônica (ZAGO *et al.*, 2001).

As terapias convencionais para o controle da LMC são a quimioterapia com hidroxiuréia, terapias medicamentosas com interferon-alfa (INF- $\alpha$ ), bussulfano ou citarabina em baixa dose, a infusão linfocitária e o transplante de células medulares. A estabilização das células sanguíneas inclui redução na contagem absoluta de células brancas, eliminação de células mielóides imaturas do sangue periférico e erradicação dos sinais e sintomas da doença (LOPES; ABREU, 2009). O bussulfano e a hidroxiuréia são medicamentos considerados paliativos, pois promovem rápida resposta clínica e hematológica, porém com manutenção do controle da doença por um período muito curto, aproximadamente 12 meses. Este fato se deve à manutenção do clone celular mutado, isto é, portador de cromossomo Ph (ZAGO *et al.*, 2001). Dados na literatura relatam que a sobrevida de pacientes tratados com hidroxiuréia, 5 anos; é significativamente maior que os tratados com bussulfano, pouco mais de 3 anos (KENNEDY, 1992). O interferon, proteínas próprias da resposta imunológica à atividade viral, é também utilizado como inibidor da proliferação dos granulócitos, principalmente na fase blástica, onde os elementos celulares encontram-se nos estágios mais imaturos. Entretanto, seu emprego terapêutico pode provocar reações gerais como autoimunização e distúrbios da esfera psíquica, apesar de na fase crônica atingir resposta citogenética completa em 5 a 20% dos casos, a toxicidade e o tempo foram insatisfatórios (TALPAZ *et al.*, 1987; MORALES, 2010).

O transplante de medula óssea alogênico é a única possibilidade de cura da LMC. Sobrevida de 5 anos tem sido relatada em 40 a 70% dos pacientes que receberam transplante durante a fase crônica da LMC (DEININGER, 1998; PASSWEG *et al.*, 1998; SAWYERS, 1999; HEHLMANN *et al.*, 2000; ALVARENGA, 2010;). O transplante de medula óssea está associado com aumento da mortalidade e da morbidade devido à intercorrências nos períodos pré e pós-transplante como: doença do enxerto contra o hospedeiro, imunossupressão e toxicidade de múltiplos órgãos (KANTARJIAN *et al.*, 1998; FADERL *et al.*, 1999; ALVARENGA, 2010).

Em 1992, cientistas da indústria farmacêutica conhecida como Cibe-Geigy sintetizaram potente inibidor da enzima ABL que foi chamado inicialmente

GCP57148B e em seguida STI57148B. Hoje, o medicamento é comercializado como nome de mesilato de imatinibe, STI-571 (DEININGER, 2008). Estudos clínicos foram iniciados e rapidamente estabeleceram a atividade do composto em pacientes portadores de leucemia mielóide crônica (DRUKER *et al.*, 2001).

Esse medicamento produzido com base na biologia molecular começou a ser testado em pacientes que se tornaram intolerantes ao interferon. A droga STI571, atua como inibidor do gene BCR-ABL, bloqueando o seu sítio de ligação de ATP (MORALES, 2010; SILVEIRA, 2011). A ação dessa droga é restrita ao clone de células Ph positivo, impedindo a expressão do gene quimérico e facilitando apoptose. Embora não seja capaz de curar a doença, este agente é capaz de atingir o controle a longo prazo, na maioria dos pacientes; por isso é o tratamento inicial de escolha para quase todos os pacientes com diagnóstico recente de leucemia mielóide crônica (GOLDMAN, 2007; BACCARANI, *et al.*, 2009). Além da negatização do cromossomo Philadelphia, outra vantagem desse medicamento é a menor frequência de efeitos colaterais e maiores respostas clínica e hematológica (BEHAM-SCHMID *et al.*, 2002; CAPDEVILLE *et al.*, 2002a, 2002b; CERVANTES, 2002; COHEN *et al.*, 2002; DRUKER, 2002, 2003; HERNANDEZ-BOLUDA; LEVITZKI, 2002; RADFORD, 2002; SAWYERS *et al.*, 2002; JABBOUR *et al.*, 2009; HUGHES *et al.*, 2009; KANTARJIAN *et al.*, 2010).

O mesilato de imatinibe é um inibidor específico de tirosino quinase, BCR-ABL, que diminui a proliferação celular das células que expressam BCR-ABL *in vitro* e possui mínimo efeito em células normais (CARROLL *et al.*, 1997). A maioria dos pacientes em fase crônica de leucemia mielóide crônica responde ao tratamento inicial com imatinibe. Em alguns casos pode-se observar a reincidência do quadro, por isso é importante controlar o padrão de resposta ao tratamento (avaliação do status da doença) em intervalos regulares, para que possam ser identificados pacientes resistentes ao tratamento, que não respondem de forma adequada ou aqueles que falham ao tratamento após uma resposta inicial. Além disso, muitos pacientes continuam aprofundar suas respostas por mais de cinco anos após iniciarem o uso de imatinibe (HOCHHAUS *et al.*, 2008).

Estudos clínicos encontram-se em andamento para verificação se outros inibidores de tirosino quinase, mais potentes, devem ser utilizados tanto isoladamente como em combinação com o imatinibe; ou mesmo em associação com outros agentes, como tratamento inicial em fase crônica (SILVEIRA, 2011).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito terapêutico do mesilato de imatinibe no tratamento de LMC em pacientes Philadelphia positivos, por meio da resposta hematológica, citogenética e molecular.

## **2 Metodologia**

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde - FEPECS, em 31 de outubro de 2011, sob o registro de 0471/2011.

Os participantes incluídos na pesquisa foram provenientes da rede hospitalar pública, atendidos no serviço ambulatorial do Hospital de Base do Distrito Federal (HBDF). Os critérios de inclusão para o desenvolvimento dessa pesquisa foram: pacientes com idade superior a dezoito anos; pacientes com diagnóstico clínico, hematológico, citogenético e/ou molecular de LMC e; pacientes em tratamento com mesilato de imatinibe. Todos os participantes que não apresentavam esses critérios foram excluídos da pesquisa.

Após a devida anuência e concordância dos participantes, pela assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, pacientes com leucemia mielóide crônica, sob tratamento de mesilato de imatinibe foram estudados clinicamente, por intermédio de um estudo retrospectivo da análise de prontuários entre novembro de 2011 a maio de 2013. Os dados coletados referem-se às informações pessoais (nome, idade, sexo) e dados clínicos (valores de hemograma, estudo citogenético, exames moleculares).

## **3 Resultados e Discussão**

### **3.1 Características gerais dos pacientes**

Os pacientes foram diagnosticados no Núcleo de Hematologia e Hemoterapia do Hospital de Base do Distrito Federal com leucemia mielóide crônica. O diagnóstico geralmente é feito ainda na fase crônica, onde são encontradas nos exames laboratoriais células imaturas e maduras, leucocitose, trombocitose e menos



de 10% de células blásticas. A clínica é caracterizada pela fadiga, palidez, sensação de plenitude abdominal, febre, sudorese noturna, e perda de peso sem causa aparente (MORALES, 2010). Todos os 43 pacientes do presente estudo utilizaram o imatinibe (STI571) como medicamento; destes, apenas 19 pacientes (44,2%) continuam em uso da medicação, os demais apresentaram resistência ao medicamento ou intolerância. O mesilato de imatinibe foi inicialmente aprovado em pacientes em fase crônica que falharam ao tratamento com a associação de interferon alfa e citarabina, os quais eram considerados o tratamento padrão prévio (DRUKER *et al.*, 2001; KANTARJIAN *et al.*, 2002).

Ao comparar o sexo dos pacientes, observou-se pequena prevalência do sexo feminino, irrelevante estatisticamente. A pesquisa demonstrou que 23 mulheres (53,5%) e 20 homens (46,5%) possuem a patologia, como demonstra a tabela 1. Acredita-se que o aumento da incidência de casos no sexo feminino se deve pela sua maior exposição aos fatores ambientais no decorrer dos últimos anos. Estudos relatam que a proporção de indivíduos do sexo masculino e feminino é de 1,4:1 (MORALES *et al.*, 2010).

Tabela 1. Distribuição dos pacientes portadores de leucemia mielóide crônica.

<b>Sexo</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
Feminino	23	53,5
Masculino	20	46,5
Total	43	100,0

A incidência da leucemia mielóide crônica na população também foi avaliada pela idade dos pacientes ao diagnóstico. Foi constatada uma variação de idade entre 21 e 77 anos, com mediana de 47 anos. A LMC acomete indivíduos de ambos os sexos com pico de diagnóstico entre 40 e 60 anos de idade, sendo que 75% dos óbitos ocorrem em adultos com idade superior a 55 anos (MOREIRA, 2009; MORALES *et al.*, 2010).

Evidenciou-se que 48,9% (n=21) dos pacientes tinham entre 30 e 49 anos quando diagnosticados (25,6% e 23,3%, respectivamente), 7 pacientes (16,3%) foram diagnosticados com 60-69 anos; pacientes com idade entre 50-59 anos e 20-29 anos representaram 14% da amostra (n=6) e 3 pacientes (7%) receberam o diagnóstico entre 70 e 89 anos de idade (tabela 2). A leucemia mielóide crônica

afeta pessoas de qualquer idade, nesta pesquisa a faixa etária que apresentou maior concentração foi entre 30-39, sendo esta dez anos mais jovens que as casuísticas nacionais, a qual apresenta mediana de 40 a 46 anos (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008). A disponibilidade da informação, o aumento da frequência dos exames laboratoriais de rotina, e as melhorias nos exames de diagnóstico da LMC podem ter contribuído para a precocidade no diagnóstico, como observada no trabalho.

Tabela 2. Distribuição de acordo com a faixa etária dos pacientes portadores de leucemia mielóide crônica em uso de imatinibe.

<b>Idade ao diagnóstico (anos)</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
20 – 29	6	14,0
30 – 39	11	25,6
40 – 49	10	23,3
50 – 59	6	14,0
60 – 69	7	16,3
70 – 79	3	7,0
Total	43	100,0

O tempo de diagnóstico da doença é um dado importante para avaliar a sobrevida dos pacientes que ainda estão em uso do mesilato de imatinibe. Dos 43 pacientes que fizeram uso do imatinibe apenas 19 não apresentaram adversidades como intolerância e resistência, continuando o tratamento com o imatinibe. A sobrevida dos pacientes com medicamentos convencionais ou paliativos é de 3 a 5 anos, o uso do mesilato de imatinibe além de uma sobrevida maior relata menos efeitos colaterais (KENNEDY, 1992; ZAGO *et al.*, 2001; HOCHHAUS *et al.*, 2008).

Foi observado que 39,5% (n =17) sabem do diagnóstico há menos de cinco anos e que 60,5% (n=26) já apresentam a doença por mais de cinco anos (tabela 3). Este dado corrobora a literatura que relata a sobrevida dos pacientes de LMC por mais de cinco anos quando em uso de inibidores de tirosino quinase (SANTOS; MORRONE, 2008).

Tabela 3. Distribuição de pacientes portadores de leucemia mielóide crônica em uso de imatinibe quanto ao tempo de diagnóstico em meses.

<b>Tempo de diagnóstico (meses)</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
20 – 39	8	18,6
40 – 59	9	20,9
60 – 79	8	18,6
80 – 99	9	20,9
100 – 119	3	7,0
> 120	6	14,0
<b>Total</b>	<b>43</b>	<b>100</b>

A tabela 4 mostra o tempo de tratamento com o imatinibe em meses. Dos 43 pacientes que fizeram uso do imatinibe, 26 o utilizaram por até 60 meses (60,4%) e 17 pacientes (39,6%) fizeram uso por mais de 60 meses. A baixa incidência após os cinco anos de uso da medicação ocorreu devido às adversidades apresentadas, como a resistência e a intolerância ao tratamento com imatinibe. Assim, 24 pacientes (55,8%), no momento, estão fazendo o uso de inibidores de tirosino quinase de segunda geração. Número elevado quando comparado à literatura, a qual relata que aproximadamente 20 a 30% dos pacientes que usam mesilato de imatinibe apresentará resistência, fato justificado por vários mecanismos diferenciados entre receptores dependentes do BCR-ABL e não dependentes (MORALES, 2010).

Tabela 4. Distribuição de pacientes portadores de leucemia mielóide crônica que usaram imatinibe.

<b>Tempo de imatinibe (meses)</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
0 – 19	8	18,6
20 – 39	13	30,2
40 – 59	5	11,6
60 – 79	4	9,3
80 – 99	7	16,3
100 – 119	1	2,3
120 – 139	3	7,0
> 140	2	4,7
<b>Total</b>	<b>43</b>	<b>100,0</b>

### 3.2 Resultados hematológicos dos pacientes portadores de leucemia mielóide crônica pré e pós-tratamento com imatinibe

A tabela 5 relata os valores da contagem de leucócitos, antes de realizar o tratamento e depois de iniciada a medicação. O valor referencial para a contagem de leucócitos compreende o intervalo de 4.500 a 10.000/mm<sup>3</sup> (ZAGO *et al.*, 2001). Os valores pré-tratamento observados nos pacientes compreendem desde 1.300 a 447.000 leucócitos/mm<sup>3</sup>. Os valores pós-tratamento variam entre 1.400 a 119.000 leucócitos/mm<sup>3</sup>. Apenas um paciente (2,3%) apresentou leucopenia antes do início do tratamento com o imatinibe, porém 76,7% apresentavam leucocitose. É comum pacientes com LMC apresentarem, no sangue periférico, leucocitose de aproximadamente 225.000/mm<sup>3</sup> com variação de 20.000 a 600.000/mm<sup>3</sup> ao diagnóstico (ANUNCIACÃO *et al.*, 2008)

Após o início do tratamento, 8 pacientes mantiveram o quadro de leucocitose e 13 pacientes, leucopenia. Este fato corrobora estudos que relatam que a maioria dos pacientes atinge a resposta hematológica completa quando tratados com o mesilato de imatinibe, além da resposta citogenética maior, em alguns casos por longo período (SILVEIRA, 2011).

Tabela 5. Distribuição dos pacientes portadores de leucemia mielóide crônica (LMC) quanto à contagem de leucócitos, pré e pós-tratamento ao imatinibe.

<b>Leucócitos (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Pré – tratamento</b>	<b>%</b>	<b>Pós – tratamento</b>	<b>%</b>
Leucopenia	1	2,3	13	30,2
4.500 - 10.000	2	4,7	15	34,9
Leucocitose	33	76,7	8	18,6
Não relatados	7	16,3	7	16,3
Total	43	100	43	100

A tabela 6 relata os valores plaquetários pré e pós-tratamento com imatinibe. Os valores pré-tratamento encontram-se entre o intervalo de 106.900 a 893.000/mm<sup>3</sup>, sendo os valores referenciais 150.000–450.000/mm<sup>3</sup> (ZAGO *et al.*, 2001). Foi possível observar que, após o tratamento, o número de pacientes com plaquetose diminuiu, mas os com plaquetopenia aumentou, demonstrando resultados entre 11.200 e 722.000/mm<sup>3</sup>. A resposta hematológica completa é alcançada pela maioria dos usuários de mesilato de imatinibe e é caracterizada por um número de leucócitos inferior a 10.000 células/mm<sup>3</sup> e contagem plaquetária

inferior a 450.000 células/mm<sup>3</sup>. A resposta hematológica completa também inclui redução na contagem absoluta de células brancas, eliminação de células mielóides imaturas do sangue periférico e erradicação dos sinais e sintomas da doença. A avaliação de todos esses parâmetros não foi possível por falta de informação nos prontuários (LOPES; ABREU, 2009; SILVEIRA, 2011).

Tabela 6. Distribuição dos pacientes portadores de leucemia mielóide crônica (LMC) quanto à contagem de plaquetas, pré e pós-tratamento ao imatinibe.

<b>Plaquetas (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Pré – tratamento</b>	<b>%</b>	<b>Pós – tratamento</b>	<b>%</b>
Plaquetopenia	2	4,7	13	30,2
150.000 - 450.000	19	44,2	19	44,2
Plaquetose	14	32,6	5	11,6
Não relatados	8	18,6	6	14
Total	43	100	43	100

### **3.3 Resultados citogenéticos dos pacientes portadores de leucemia mielóide crônica pré e pós- tratamento com imatinibe.**

O resultado da análise citogenética das células da medula óssea é demonstrado na tabela 7. Estes resultados foram analisados a partir da leitura dos prontuários de cada paciente, antes e após o tratamento com imatinibe (STI571), sendo este um inibidor da proteína tirosino quinase, BCR-ABL. A competição com o receptor celular de ATP do domínio tirosino quinase de ABL impede a habilidade deste cromossomo transferir grupos fosfato de ATP e resíduos de tirosino fosforilada, o que previne a transdução de sinais de energia necessários para a proliferação celular e apoptose. Assim, após o início do uso do mesilato de imatinibe o cromossomo Ph é pouco observado, pois o objetivo do tratamento com mesilato de imatinibe é provocar a ausência de células mutadas (Ph), imaturas como mielócitos, promielócitos, ou blastos no sangue periférico, e por fim os sinais ou sintomas da doença (SANTOS; MORRONE, 2008; LOPES; ABREU, 2009; MORALES, 2010).

Na condição pré-tratamento pode-se notar que 83,7% (n=36) apresentavam Ph em quase 100% de suas células e que 9,3% (n=4) não tinham a mutação ao diagnóstico. Destes quatro pacientes, apenas um apresentou resultados moleculares confirmando a presença do BCR-ABL. Nos outros três pacientes esse dado não pode ser confirmado por ausência de informação nos referidos prontuários. Estudos demonstram que todos os pacientes de LMC apresentam a translocação BCR-ABL,

esse achado possibilitou o desenvolvimento de tratamentos que agem nesse defeito molecular (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008).

O pós-tratamento apresenta a resposta citogenética dos pacientes após o uso da medicação, essa resposta citogenética é definida de acordo com a porcentagem de células Ph positivas: resposta citogenética completa (RCC: 0% de células Ph); resposta parcial (RCP: 1% a 34% de células Ph); resposta citogenética menor (RCm: 35%-95% de células Ph) e sem resposta citogenética (SRC: mais que 95% de células Ph) (ALVARENGA, 2010). Vinte e oito pacientes (65,1%) alcançaram resposta citogenética completa, 5 pacientes (11,6%) obtiveram resposta citogenética parcial e 4 pacientes (9,3%) demonstraram resposta citogenética menor. A análise citogenética não foi relatada em 4 pacientes e 2 pacientes não atingiram nenhuma resposta citogenética. A provável causa da não obtenção da resposta citogenética é a resistência ao mesilato de imatinibe que se deve pela alteração de um ou mais mecanismos intracelulares. Os resultados de resistência aqui apresentados, devem estar associadas às alterações citogenéticas adicionais e a possíveis variações moleculares do cromossomo Ph.

Tabela 7. Resultado da análise citogenética dos pacientes portadores de leucemia mielóide crônica (LMC), pré e pós- tratamento ao imatinibe.

<b>Citogenética</b>	<b>Pré – tratamento</b>	<b>%</b>	<b>Pós - tratamento</b>	<b>%</b>
RCC (0% Ph)	4	9,3	28	65,1
RCP(1 -34% Ph)	1	2,3	5	11,6
RCm(35-95%Ph)	2	4,7	4	9,3
SRC(>95%Ph)	36	83,7	2	4,7
Não relatados	0	0,0	4	9,3
<b>Total</b>	<b>43</b>	<b>100</b>	<b>43</b>	<b>100,0</b>

RCC- Resposta citogenética Completa; RCP- Resposta Citogenética Parcial; RCm- Resposta Citogenética menos; SRC- Sem Resposta Citogenética.

A evolução clonal é um dado importante na avaliação da progressão da LMC, pois pode ser consequência de falha na resposta ao tratamento com imatinibe (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008). A tabela 8 demonstra os pacientes que apresentaram mutações adicionais, isto é, apresentavam além do cromossomo Philadelphia, outras mutações. Dados na literatura afirmam que alguns pacientes podem desenvolver alterações cromossômicas adicionais. As mais observadas são:

duplo Ph, trissomia do 8, trissomia do 21, dentre outras que configuram evolução clonal (CHAUFFAILLE, 2010).

Na população observada não se detectou a presença de trissomia do 21, porém o duplo Ph e a trissomia do 8 foram observadas em paciente pré-tratamento. Um achado excêntrico, em outro paciente pré-tratamento, foi a translocação entre os cromossomos 16 e 17. Após o início do tratamento, não foi mais possível a observação desta translocação – t(16;17) nesse paciente, mas também não se observou remissão citogenética, levando-o à alteração do tratamento. No paciente portador do duplo Ph e da trissomia do cromossomo 8, foi visualizada a manutenção do duplo Ph com extinção da trissomia do 8. Em indivíduo distintos, pós-tratamento, foram visualizadas a inversão do 3 e a monossomia do 7. Apenas um desses pacientes citados continua em uso de mesilato de imatinibe, sendo que foi observada falha na resposta citogenética na última consulta. Por este motivo, os outros três pacientes migraram para outro protocolo de tratamento com inibidores de segunda geração.

Tabela 8. Mutações genéticas encontrada em paciente com LMC com o uso de imatinibe.

Paciente com evolução clonal	Pré - tratamento	Pós – tratamento
<b>DdGM</b>		45,xy,-7
<b>JRB</b>		inv-3q
<b>JDdM</b>	t(16,17)	
<b>MdSB</b>	duplo ph; tri 8	duplo ph

É necessário caracterizar citogeneticamente e clinicamente os pacientes com LMC para direcionar adequadamente o tratamento, considerando a sua qualidade de vida e o tempo de sobrevida após a terapia. Já existem estudos demonstrando efeitos adversos com o mesilato de imatinibe, nos quais indicam a sua suspensão. Mutações em domínios específicos da proteína BCR-ABL impedem a eficácia do imatinibe, o que caracteriza a resistência ao tratamento. Estes casos estimulam o desenvolvimento de novas drogas alvo-molecular, como o dasatinibe e o nilotinibe que são drogas derivadas do imatinibe. Todas estas novas drogas têm o objetivo de ser mais específicas ou mais efetivas contra os clones BCR-ABL resistentes ao mesilato de imatinibe. No entanto, torna-se relevante o estudo das manifestações clínicas

adversas observadas durante o tratamento com essas novas drogas, sendo para isso, necessário um estudo a longo prazo (ALVARENGA, 2010).

### 3.4 Resultados moleculares dos pacientes portadores de leucemia mielóide crônica no tratamento com imatinibe.

A técnica utilizada para monitorar a resposta molecular é o PCR-quantitativo (RT-qPCR), a qual permite quantificar o número de transcritos de BCR-ABL. O PCR, por ser menos invasivo que a citogenética, é muito usado para acompanhamento da leucemia mielóide crônica. Foi observado, em muitos prontuários, que após alcance da resposta citogenética completa, o monitoramento da doença é realizado por esta técnica.

A resposta molecular maior (RMM) é esperada após seis meses de obtida a resposta citogenética completa. A RMM é caracterizada por resultados menores ou iguais a 0,1 de transcritos BCR-ABL e a resposta molecular completa (RMC) é caracterizada pela ausência de transcritos BCR-ABL (CHAUFFAILLE, 2009; MORALES, 2010; SILVEIRA, 2011). O exame molecular é utilizado juntamente com outras técnicas no acompanhamento do paciente e por esse motivo, não é possível a obtenção dos dados completos (pré e pós-tratamento).

Na tabela 9, pode-se observar a porcentagem das respostas moleculares dos pacientes. Após o início do tratamento com imatinibe, 30,2% dos pacientes (n=13) atingiram a RMC e 34,9% (n=15) a RMM. Em 9 pacientes (20,9%) não foi alcançada resposta molecular (SRM), e em 6 pacientes não houve relato. Sempre que o paciente apresenta perda de resposta molecular é recomendado o exame de cariótipo da medula óssea, já que só ele permite a demonstração da aquisição de alterações clonais que são mais frequentes nessas condições (CHAUFFAILLE, 2008).

Tabela 9. Porcentagem da resposta molecular dos pacientes de leucemia mielóide crônica em uso do mesilato de imatinibe.

<b>Resposta Molecular</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
RMC	13	30,2
RMM	15	34,9
SRM	9	20,9
Não relatados	6	14,0
Total	43	100,0



#### 4 Conclusão

A pesquisa avaliou o efeito terapêutico do imatinibe através dos resultados laboratoriais hematológico, citogenético e molecular. Todos os pacientes obtiveram regressão do quadro de leucocitose e trombocitose após início do tratamento com o imatinibe, porém alguns destes pacientes demonstraram falha no tratamento e por esta razão apresentaram recidivas destes parâmetros. O uso do mesilato de imatinibe se mostrou eficiente no tratamento de leucemia mielóide crônica nos pacientes do Hospital de Base do Distrito Federal visto que dos 28 pacientes em estudo, mais da metade (65,1%) atingiu resposta citogenética completa. Esse resultado também foi evidenciado pelos parâmetros moleculares em que 28 pacientes (65,1%) atingiram algum tipo de resposta molecular.

As pesquisas na área são relevantes para avaliação e caracterização clínica de novas drogas com diferentes alvos moleculares, visando à melhoria da qualidade de vida do paciente e possível a remissão completa da doença. Inibidores de tirosino quinase de segunda geração (dasatinibe e nilotinibe) já foram desenvolvidos e vêm sendo utilizados por pacientes com LMC. Além disso, se avalia a possibilidade de uso combinado de diferentes drogas considerando o quadro do paciente e sua resposta a medicações anteriores.

## **EVALUATION OF THERAPEUTIC EFFECT OF IMATINIB MESYLATE (STI-571) IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA**

### **Abstract**

Chronic myeloid leukemia (CML) is a cancer characterized by bone marrow cytogenetic abnormality, a translocation between chromosomes 9 and 22, resulting Philadelphia chromosome (Ph). Among available treatments options for CML are tyrosine kinase inhibitors such as imatinib mesylate (STI-571). Therapy with imatinib aims to prolong the chronic phase of the disease and the patient's life, preventing the formation of the hybrid gene BCR-ABL. This research objective was to evaluate imatinib therapeutic effect on Ph positive CML patients treatment, by analyzing medical records of hematologic, cytogenetic and molecular responses. A total of 43 patients were selected, aged 21-77 years with a mean of 47. Seventeen patients (39.6%) had lower age at diagnosis, which demonstrated 10 years precocity when compared to national sample. Time of diagnosis has shown that the disease is over 5 years in 60.5% of the patients. Hematological data help to monitor the disease, since cytogenetic and molecular datas provides the assessment to resistance to treatment and prognosis. In this study, it was observed that 60.1% of the patients had a complete cytogenetic response (CCR) and some degree of molecular response, featuring improved survival. All selected patients made use of imatinib, but only 19 of them continue its use, and the 24 patients remaining migrated to different treatment protocols because of resistance or intolerance to imatinib.

Keywords: Philadelphia chromosome. BCR-ABL protein. Tyrosine kinase inhibitor.

## Referências Bibliográficas

ALVARENGA, T.F.; CARVALHO, L.O.; LUCENAS, S.B. *et al.* Efeitos adversos e resposta citogenética em pacientes com leucemia mielóide crônica tratados com imatinibe. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, 32(2): 116- 122, 2010.

ANUNCIAÇÃO, S.F.; ELIAS, L.F.Q.; GUIMARÃES, D.C. *et al.* Aspectos diagnósticos da leucemia mielóide crônica e detecção de doença residual mínima. **Estudos, Goiânia.**, 35(11/12): 1069-1083, 2008.

BACCARANI, M.; CORTES, J; PANE, F.; *et al.* Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. **J Clin Oncol.**, 27(35): 6041-6051, 2009.

BARTRAM, C.R. Rearrangement of bcr and c-abl sequences in Ph-positive acute leukemias and Ph-negative CML – an update. **Hematology and Blood Transfusion**, 31: 160-162, 1987b

BEHAM-SCHMID, C.; APFELBECK, U.; SILL, H. *et al.* Treatment of chronic myelogenous leukemia with the tyrosine kinase inhibitor STI571 results in marked regression of bone marrow fibrosis. **Blood.**, 99: 381-383, 2002.

BORTOLHEIRO, T.C.; CHIATTONE, C.S. Leucemia mielóide crônica: história natural e classificação. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** 30(1): 3-7, 2008.

CALABRETTA, B.; PERROTTI, D. The biology of CML blast crisis. **Rev. in translational hematology.**, 103 (11): 4010-4022, 2004.

CARROLL, M.; OHNO-JONES, S.; TAMURA, S. *et al.* CGP 57148, a tyrosine kinase inhibitor, inhibits the growth of cells expressing BCR-ABL, TEL-ABL, and TEL-PDGFR fusion proteins. **Blood.**, 90(12): 4947-4952, 1997

CHAUFFAILE, M.L.L.F. Análise citogenética e FISH no monitoramento da LMC em tratamento com inibidores da tirosino quinase. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, 30(1): 13-19, 2008.

CHAUFFAILE, M.L.L.F. Leucemia mielóide crônica: tratamento baseado em evidências. **Diagn. Tratamento.**, 14(2): 62-65, 2009.

CHAUFFAILE, M.L.L.F. Neoplasias mieloproliferativas: revisão dos critérios diagnósticos e dos aspectos clínicos. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, 32(4): 308-316, 2010.

CORTES, J.E.; KANTARJIAN, H. Advanced-phase chronic myeloid leukemia. **Semin Hematol.** 40(1): 79-86, 2003.

DEBRAKELEER, M; CHIU, H.M; FISER, J; GARDNER, H.A. A further case of Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia with t(3;9;22). **Cancer Genetics and Cytogenetics**, 35(2): 279-280, 1988.

DEININGER, M.V.; GOLDMAN, J.M. Chronic myeloid leukemia. *Curr. Opin. Hematol.*, 5(4):302-308, 1998

DRUKER, B.J.; TALPAZ, M.; RESTA, D.J. *et al.* Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. **N Engl J Med**, 344(14): 1031-1037, 2001.

DRUKER, B.J. Imatinib and chronic myeloid leukemia: validating the promise of molecularly targeted therapy. **Eur. J. Cancer**, 38: 70-76, 2002.

DRUKER, B.J. Imatinib alone and in combination for chronic myeloid leukemia. **Semin. Hematol.**, 40(1): 50-58, 2003.

DUBÉ, I.; DIXON, J.; BECKETT, T.; *et al.* Location of breakpoints within the major breakpoint cluster region (bcr) in 33 patients with bcr rearrangement-positive chronic myeloid leukemia with complex or absent Philadelphia chromosomes. **Genes Chromosomes Cancer**, 1(1): 106-111, 1989.

FADERL, S.; KANTARJIAN, H.M.; TALPAZ, M. *et al.* Chronic myelogenous leukemia: update on biology and treatment. **Oncology**, 13(2): 169-180, 1999.

GILES, F.J.; CORTES, J.E.; KANTAJIAN, H. *et al.* Accelerated and blastic phases of chronic myelogenous leukemia. **Hematol Oncol Clin N Am**, 18: 753-774, 2004.

GOLDMAN, J.M. How I treat chronic myeloid leukemia in the imatinib era. **Blood.**, 110(8): 2828-2837, 2007.

GREER, JP.; FOESTER, J.; RODGER, G.M. *et al.* **Wintrobe's Clinical Hematology**. 12<sup>a</sup>. ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2009. 1272 p.

HEHLMANN, R.; HOCHHAUS, A.; BERGER, U. *et al.* Current trends in the management of chronic myelogenous leukemia. **Ann. Hematol.**, 79(7): 345-354, 2000.

HERNANDEZ-BOLUDA, J.C.; CERVANTES, F. Imatinib mesylate (Gleevec, Glivec): a new therapy for chronic myeloid leukemia and other malignancies. **Drugs Today**, 38(9): 601-613, 2002.

HOCHHAUS, A.; BACCARANI, M.; DEININGER, M. *et al.* Dasatinib induces durable cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase with resistance or intolerance to imatinibe. **Nature**,. 22: 1200-1206, 2008.

HUGHES, T.; SAGLIO, G.; BRANDFORD, S. *et al.* Impact of baseline BCR-ABL mutations on response to nilotinib in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase. **J Clin Oncol**, 27(25): 4204-4210, 2009.

ICHIMARU, M.; ISHIMARU, T.; BELSKY, J.L. Incidence of leukemia in atomic bomb survivors belonging to a fixed cohort in Hiroshima and Nagasaki, 1950-1971 Radiation dose, years after exposure, age at exposure, and type of leukemia. **J. Radiat. Res.**, 19(3): 262-282, 1978.

JABBOUR, E.; JONES, D.; KANTARJIAN, H. M.; *et al.* Long-term outcome of patients with chronic myeloid leukemia treated with second-generation tyrosine kinase inhibitors after imatinib failure is predicted by the in vitro sensitivity of BCR-ABL kinase domain mutations. **Blood**, 114(10): 2037-2043, 2009.

KANTARJIAN, H.M.; CORTES, J.E.; O'BRIEN, S.M.; *et al.* Imatinib mesylate therapy in newly diagnosed patients with Philadelphia chromossome-positive chronic myelogenous leukemia: high incidence of early complete and major cytogenetic responses. **Blood**, 101(1): 97-100, 2002.

KANTARJIAN, H.M.; SHAH, N. P.; HOCHHAUS, A.; *et al.* Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. **N Engl J Med**, 362(24): 2260-2270, 2010.

KANTARJIAN, H.M.; GILES, F.J.; O'BRIEN, S.M.; *et al.* Clinical course and theraphy of chronic myelogenous leukemia with interferon-alpha and chemotherapy. **Hematol. Oncol. Clin. North Am.**, 12(1): 31-80, 1998.

KENNEDY, B.J. The evolution of hydroxyurea therapy in chronic myelogenous leukemia. **Semin. Oncol.**, 19 (3 suppl. 9): 21-26, 1992.

KRAMER, A. JAK2-V617F and BCR-ABL--double jeopardy? **Leuk Res.**, 32(10): 1489-1490, 2008.

KURZROCK, R.; BLICK, M.B.; TALPAZ, M.; *et al.* Rearrangement in the breakpoint cluster region and the clinical course in Philadelphia-negative chronic myelogenous leukemia. **Ann. Intern. Med.**, 105(5): 673-679, 1986.

LOPES, N.R.; ABREU, M.T.C.L. Inibidores de tirosino quinase na leucemia mielóide crônica. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, 31(6): 449-453, 2009.

LORENZI, T.F. **Manual de hematologia – Propedêutica e clínica.** Ed. 2<sup>a</sup>. Rio de Janeiro: MEDSI., 1999. 641p.

MORALES, C.; CÁRDENAS, V.T.; VALENCIA, J.E. *et al.* Leucemia mielóide crônica: diagnóstico y tratamiento. **CES Med.**, 24(1): 97-108, 2010.

MOREIRA, B.M.; BOECHAT, L. Proposta do acompanhamento farmacoterapêutico em leucemia mielóide crônica: modelo de abordagem metodológica. **Rev. Bras. de Cancerologia.**, 55(4): 375-378, 2009.

NICOLINI, F.E.; MAURO M.J., MARTINELLI G. *et al.* Epidemiologic study on survival of chronic myeloid leukemia and Ph(+) acute lymphoblastic leukemia patients with BCR-ABL T315I mutation. **Blood**, 114(26): 5271-5278, 2009.

PASSWEG, J.R.; ROWLINGS, P.A.; HOROWITZ, M.M. Related donor bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia. **Hematol. Oncol. Clin. North. Am.**, 12(1): 81-92, 1998.

RADFORD, I.R. Imatinib. Novartis. **Curr. Opin. Investig. Drugs**, 3(3): 492-499, 2002.

SANTOS, L.R.; MORRONE, F.B. Resultados do mesilato de imatinibe no tratamento da leucemia mielóide crônica: uma revisão bibliográfica. **Rev. da Graduação.**, 1(1), 2008.

SAWYERS, CL. Chronic myeloid leukemia. **N. Engl. J. Med.**, 340(17): 1330-1340, 1999.

SAWYERS, C.L.; HOCHHAUS, A.; FELDMAN, E.; *et al.* Imatinib induces hematologic and cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in myeloid blast crisis: results of a phase II study. **Blood**, 99(10): 3530-3539, 2002.

SEUÁNEZ, H. N.; MOREIRA, M. A. M.; OTAZÚ, I. B.; *et al.* Métodos Moleculares de Diagnóstico. In: FERREIRA, C. G.; ROCHA, J. C. **Oncologia Molecular**, 13-28, 2004.

SILVEIRA, C.A.P. Resposta ao tratamento com mesilato de Imatinibe nos portadores de Leucemia Mielóide Crônica do Hospital de Base do Distrito Federal. Brasília, 2011. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, **Universidade de Brasília**, 2011.

TALPAZ, M.; KANTARJIAN, H.M.; MCCREDIE, K.B.; *et al.* Clinical investigations of human alpha interferon In chronic myelogenous leukemia. **Blood**, 69(5): 1280-1288, 1987.

VAN ETEN, R.A. c-Abl regulation: a tail of two lipids. **Current Biology**, 13(15): 608-610, 2003.

ZAGO, M.A.; FALCÃO, R.P.; PASQUINI, R. **Hematologia: Fundamentos e Prática**. São Paulo: Atheneu, 2001. 1042 p.